

© А.О. Байырханова с соавт. Антипролиферативный эффект интравитреального имплантата

doi: 10.18484/2305-0047.2016.4.336

А.О. БАЙЫРХАНОВА <sup>1,2</sup>, Т.К. БОТАБЕКОВА <sup>2</sup>, Ю.М. СЕМЁНОВА <sup>1</sup>

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОГО ЭФФЕКТА ИНТРАВИТРЕАЛЬНОГО ИМПЛАНТАТА ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ

Государственный медицинский университет, г. Семей <sup>1</sup>,АО «Казахский ордена «Знак почёта» научно-исследовательский институт глазных болезней» <sup>2</sup>, г. Алматы, Республика Казахстан

**Цель.** Изучить в эксперименте антипролиферативное действие хитозановой пленки (ХП) при хирургическом лечении пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) методом ультразвукового исследования (УЗИ).

**Материал и методы.** Исследование было проведено на десяти взрослых кроликах (20 глаз) породы «шиншилла» весом 2,5-4,0 кг. С целью формирования экспериментальной ПВР использовалась аутогема (0,4 мл). Глаза животных были разделены на 4 группы: I и II основные – 10 правых глаз (5 глаз – имплантация ХП, насыщенной 5-фторурацилом (5-ФУ) и 5 глаз – ХП без 5-ФУ), I и II контрольные – 10 левых глаз (без имплантации пленки). На 10-е и 31-е сутки после операции сравнивался антипролиферативный эффект.

**Результаты.** На 10-е сутки в 4-х глазах I и II основных групп и во всех глазах контрольных групп наблюдался частичный гемофтальм. В 4 глазах I контрольной и 4 глазах II контрольной групп в заднем отделе наблюдался витреоретинальный тяж. На 31-е сутки в 2-х глазах I основной группы отмечалось помутнение стекловидного тела. В 1 глазу I основной и 3 глазах II основной групп наблюдался частичный гемофтальм. В 3-х глазах II основной группы визуализировался витреоретинальный тяж. Во всех глазах контрольных групп наблюдался гемофтальм в стадии организации, задние оболочки утолщены. В 4 глазах I контрольной и 5 глазах II контрольной групп – витреоретинальный тяж, все стекловидное тело было заполнено тенями с четкими контурами, экссудат находился в заднем отделе.

**Заключение.** Применение хитозановой пленки с 5-фторурацилом оказывает наибольший антипролиферативный эффект. Хитозановая пленка без 5-фторурацила также блокирует процесс пролиферации, но в меньшей степени. После проведения морфологических исследований данный имплантат может быть использован в клинике при хирургическом лечении ПВР с целью профилактики рецидивов в послеоперационном периоде.

**Ключевые слова:** стекловидное тело, пролиферативная витреоретинопатия, хитозан, 5-фторурацил, морфологические исследования, хирургическое лечение, послеоперационный период

**Objectives.** To study the anti-proliferative effect of chitosan film (ChF) in surgical treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy (PVR) by the ultrasound method (US).

**Methods.** This study has been conducted on 10 adult rabbits (20 eyes) of “chinchilla” breed weighing 2,5 – 4,0 kg. To develop an experimental PVR the autohemotherapy (0,4 ml) is used. The eyes of animals were divided into 4 groups: the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> – the main groups – 10 right eyes (5 eyes – the implantation of ChF saturated with 5-fluorouracil (5-FU) and 5 eyes – ChF without 5-FU), the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> control groups – 10 left eyes (without implanting the film). On the 10<sup>th</sup> and 31<sup>st</sup> days after operation the anti-proliferative effect has been compared.

**Results.** On the 10<sup>th</sup> day the partial hemophthalmos in 4 eyes of the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> main groups and in all eyes of control groups has been noted. There was a vitreoretinal cord in the posterior part in 4 eyes of the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> control groups. On the 31<sup>st</sup> day in 2 eyes of the 1<sup>st</sup> main group turbidity of a vitreous body was observed. In 1 eye of the 1<sup>st</sup> main group and 3 eyes of the 2<sup>nd</sup> main group the partial hemophthalmos was noted. A vitreoretinal cord was visualized in 3 eyes of the 2<sup>nd</sup> main group. In all eyes of the control groups a hemophthalmos in the forming stage was observed, and the posterior covers were thickened. There was a vitreoretinal cord in 4 eyes of the 1<sup>st</sup> control and in 5 eyes of the 2<sup>nd</sup> control groups, the whole vitreous body was filled with accurate contours shadows; the exudate – in the posterior part.

**Conclusion.** Using the chitosan film with 5-fluorouracil enhances the anti-proliferative effect to a great extent. The chitosan film without 5-fluorouracil also blocks the proliferation process, but to a lesser extent. After the morphological studies the given implant can be clinically applied during vitreous surgery to prevent recurrence in the incisional period.

**Keywords:** vitreous body, proliferative vitreoretinopathy, chitosan, 5-fluorouracil, morphological studies, vitreous surgery, incisional period

Novosti Khirurgii. 2016 Jul-Aug; Vol 24 (4): 336-341

The Study of Anti-Proliferative Effect of Intravitreal Implant in Surgical Treatment of Proliferative Vitreoretinopathy

A.O. Baiyrkhanova, T.K. Botabekova, Y.M. Semenova

### Введение

Пролиферативная витреоретинопатия (ПВР)

представляет собой одну из тяжелейших форм заболеваний органов зрения и является серьезной медико-социальной проблемой. ПВР

рассматривается как типовой патологический процесс внутри глаза, характеризующийся местным рубцеванием как средством ликвидации альтерации тканей, протекающий при таких офтальмологических заболеваниях, как отслойка сетчатки, гемофтальм, травма, диабет [1]

В структуре инвалидности по зрению ПВР составляет 2-9%, причем 84-89% страдающих этим заболеванием — лица трудоспособного возраста, что обуславливает ее социальную значимость [2].

За последние годы достигнут прогресс в области хирургии отслойки сетчатки, что позволило снизить число интра- и послеоперационных осложнений, значительно улучшить анатомические и функциональные результаты операций при данной патологии. Однако, несмотря на качественно новый уровень современных возможностей диагностики, значительный шаг вперед в сфере витреоретинальной хирургии, количество успешных операций при ПВР, согласно данным многих авторов, достигает 61,5-97,5% [3, 4, 5].

Прогрессирование ПВР в послеоперационном периоде является одной из главных причин неудачного хирургического лечения отслоек сетчатки и наблюдается в 2,2-29,4% случаев [3, 5]. Рецидивы отслойки сетчатки по причине прогрессирования ПВР составляют от 2,2 до 20,0% [3, 5, 6, 7, 8].

На современном этапе лечения ПВР наметились новые тенденции применения антипролиферативных агентов на различных носителях-имплантатах, используемых во время интравитреальных вмешательств. Широкое применение получили препараты, действие которых направлено на ингибирование формирования рубцовой ткани, в частности цитостатики. Известным представителем данной группы препаратов является 5-фторурацил [9].

В последние годы возрастает интерес специалистов к препаратам на основе хитина и хитозана, которые полностью разрушаются и усваиваются организмом, обладают противовоспалительным действием, высокой биосов-

местимостью, улучшают процессы регенерации клеток и тканей [10, 11].

Нами проведено экспериментальное исследование, состоящее из двух серий. После проведения первой серии, а именно морфологического изучения в эксперименте состояния внутриглазных структур после интравитреального введения хитозановой пленки (ХП) с 5-фторурацилом в двух дозировках (0,05 мл и 0,1 мл), установлено, что обе используемые дозировки 5-фторурацила не оказывают токсического воздействия на ткани глаз кроликов, однако есть различия показателей пролиферации: при использовании 0,05 мл 5-фторурацила отмечается небольшая пролиферативная активность, а при использовании 0,1 мл 5-фторурацила она отсутствует. [12, 13].

Задачей второй серии экспериментального исследования было изучить антипролиферативный эффект ХП с 0,1 мл 5-фторурацила методом УЗИ и морфологически. В этой статье мы представляем данные ультразвукового исследования.

**Цель.** Изучить в эксперименте антипролиферативное действие ХП с 5-фторурацилом при хирургическом лечении пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) методом ультразвукового исследования.

## Материал и методы

Исследование было проведено на десяти взрослых кроликах (20 глаз) породы «шиншилла» весом 2,5-4,0 кг, без внешних признаков заболевания, в одинаковых условиях, на стандартном пищевом режиме на базе отдела моделирования и экспериментальной терапии и вивария ЦНИЛ Казахского Национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова. С целью формирования экспериментальной ПВР использовалась аутогема (0,4 мл) [14]. Глаза животных были разделены на четыре группы (таблица 1).

Операция «Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение аутогемы и ХП с 5-ФУ и без» производилась с соблюдением правил

Таблица 1

Распределение животных по группам

Вид операции	Группа	Количество глаз	Сроки энуклеации
OD — Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогемы, ХП с 0,1 мл 5-фторурацила.	I основная	5 глаз	31 сутки
OS — Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогемы.	I контрольная	5 глаз	31 сутки
OD — Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогемы, ХП	II основная	5 глаз	31 сутки
OS — Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогемы.	II контрольная	5 глаз	31 сутки

асептики и антисептики. Анальгетический и спазмолитический эффекты достигались путем внутримышечной инъекции 0,1-0,4 мл ветеринарного препарата Ксилавет, трехкратной инстилляцией инокаина.

Методика интравитреального введения полимерного имплантата в эксперименте: после наложения векорасширителя производилась отсепаровка конъюнктивы в 5 мм от лимба. Склеротомия длиной 1,0 мм в проекции плоской части цилиарного тела на 1 ч копом 19G. После частичной передней витрэктомии выполнялась имплантация ХП размером: ширина — 1 мм, длина — 8 мм, насыщенной 5-фторурацилом в заданной дозировке (0,1 мл), в стекловидное тело при помощи пинцета. Из ушной вены животного при помощи инъекционной иглы и шприца объемом 2 мл набиралась кровь в объеме 0,4 мл и вводилась интравитреально через склеротому. На склеру и конъюнктиву накладывался узловый шов (10,0). В конъюнктивальную полость инстиллировали антибиотик.

На 10-е и 31-е сутки после операции всем кроликам было проведено УЗИ глаз на базе АО «Казахский ордена «Знак почета» научно-исследовательский институт глазных болезней», г. Алматы. УЗИ проводилось на аппарате EZ Scan AB 5500+ ophthalmic ultrasound scanner контактным методом В-скана, позволяющим визуализировать задний отрезок глаза, включая хрусталик, стекло-

видное тело, сетчатку и др. Использовался датчик с частотой 5-15 МГц. На датчик наносился гель для контактного исследования глаз кроликов. В конъюнктивальную полость животных закапывали анестезирующие капли.

Исследование было одобрено этическим комитетом Государственного медицинского университета г. Семей в соответствии с «Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой Советом Европы (Страсбург, Франция, 1986 г.), и Директивой Совета 86/609 ЕЕС от 24.11.1986 г. «По согласованию законов, правил и административных распоряжений стран-участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и научных целях».

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью статистического пакета программы SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), версия 20.0 для Windows (лицензия ГМУ г. Семей). Для проверки гипотезы о связи двух качественных признаков использовался точный критерий Фишера. Статистически высоко значимыми считали различия при  $p \leq 0,01$ , значимыми — при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

УЗИ глаз кроликов на 10-е сутки после операции по группам представлено на рисунке 1.

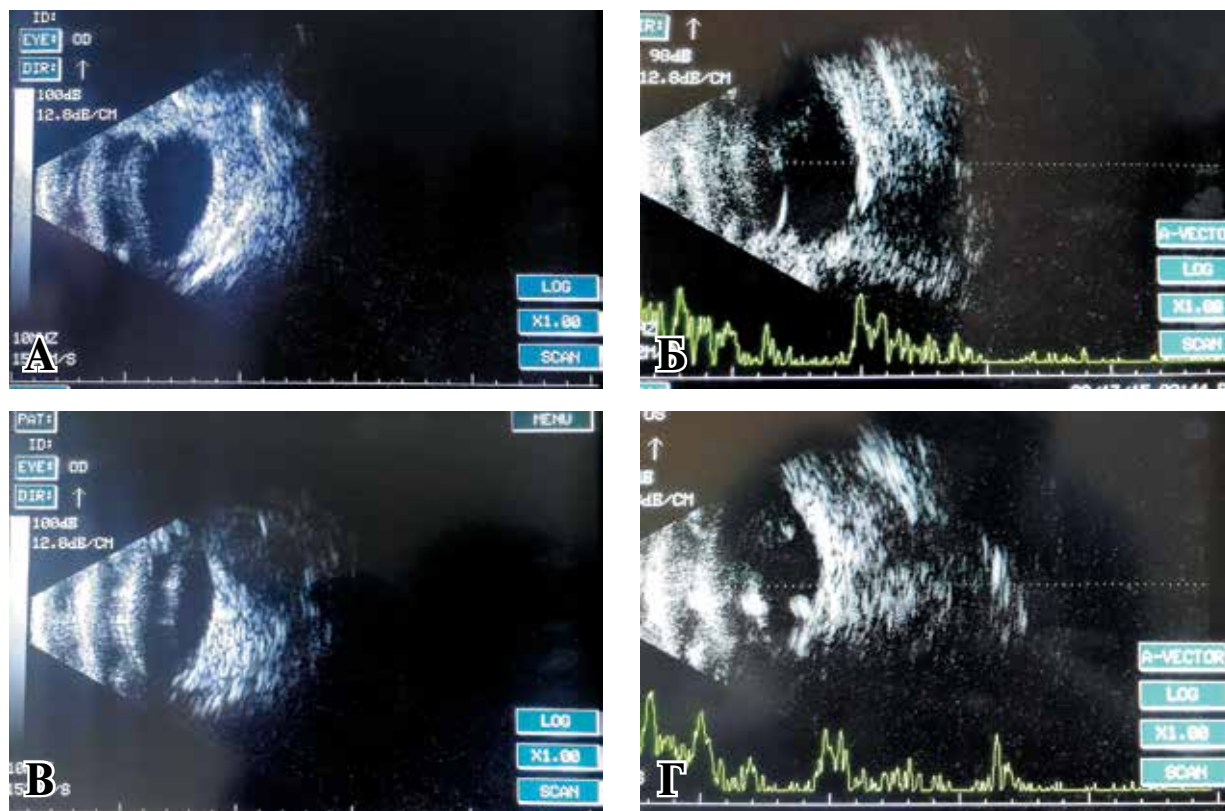


Рис. 1. Сканогамма. А — I основная. Б — I контрольная. В — II основная. Г — II контрольная.

Описание выявленных на 10-е сутки после операции ультразвуковых изменений по степени встречаемости в наблюдаемых группах представлено в таблице 2.

Из таблицы 2 следует, что на 10-е сутки в I и II основных группах в 4 случаях в каждой выявлен гемофтальм. В контрольных группах

в 4 случаях в каждой обнаружен витреоретинальный тяж, что является проявлением внутриглазной пролиферации, в основных группах подобных изменений не наблюдалось, что было статистически значимо ( $p=0,0476$ ).

УЗИ глаз кроликов на 31-е сутки после операции представлено на рисунке 2.

Таблица 2

Изменения в глазах кроликов на 10-е сутки после операции

Группа	Сетчатка прилежит		Помутнение стекловидного тела		Гемофтальм		Витреоретинальный тяж		Утолщение задних оболочек		Экссудат в заднем отделе, тени с четкими контурами	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
I основная	5	100	5	100	4	80	0*	0	0	0	0	0
I контрольная	5	100	5	100	5	100	4*	80	0	0	4	0
II основная	5	100	5	100	4	80	0*	0	0	0	0	0
II контрольная	5	100	5	100	5	100	4*	80	0	0	5	0

Примечание: \* – различия между группами были статистически значимы ( $p<0,05$ ).

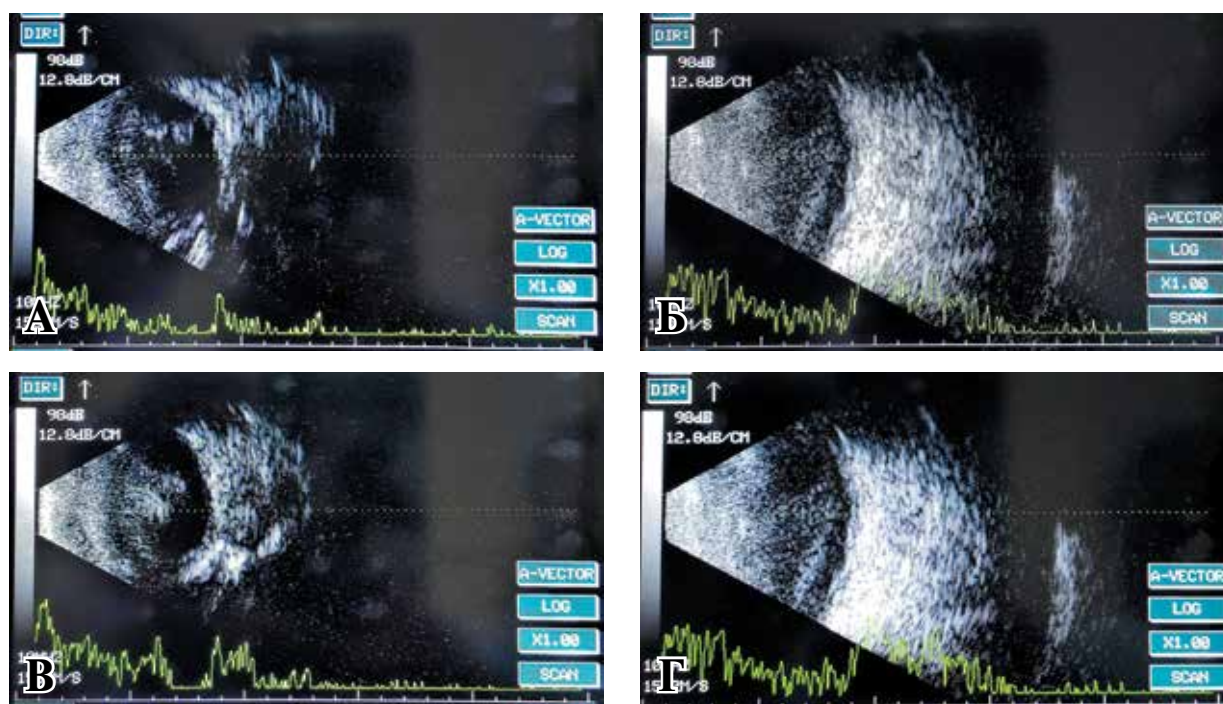


Рис. 2. Сканограмма. А – I основная. Б – I контрольная. В – II основная. Г – II контрольная.

Описание выявленных на 31-е сутки после операции ультразвуковых изменений по степени встречаемости в наблюдаемых группах представлено в таблице 3.

Из таблицы 3 видно, что гемофтальм в I основной группе на 31-е сутки в большинстве случаев уменьшился по сравнению с I контрольной группой, что было статистически значимо ( $p=0,0476$ ). Проллиферативные изменения прогрессировали в обеих контрольных группах в виде витреоретинального тяжа, статистически значимое различие было только в I основной и контрольной группах ( $p=0,0476$ ). Утолщения задних оболочек не было в глазах основных групп,

в контрольных группах наблюдались во всех глазах, что было статистически высоко значимо ( $p=0,0079$ ). Экссудат в заднем отделе и тени с четкими контурами как проявления выраженного воспаления наблюдались в I – контрольной группе в 4 глазах и во II контрольной – в 5 глазах. В I и II основных группах не наблюдались, что было статистически значимо и высоко значимо соответственно ( $p=0,0476$  и  $p=0,0079$ ).

### Обсуждение

Полученные результаты показывают антипролиферативный эффект ХП с 5-фторура-



Таблица 3

## Изменения в глазах кроликов на 31-е сутки после операции

Группа	Сетчатка прилежит		Помутнение стекловидного тела		Гемофтальм		Витрео-рети-наль-ный тяж		Утолще-ние задних оболочек		Экссудат в заднем отделе, тени с четкими контурами	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
I основная	5	100	2	40	1*	20	0*	0	0**	0	0*	0
I контрольная	5	100	5	100	5*	100	4*	80	5**	100	4*	80
II основная	5	100	5	100	3	60	3	60	0**	0	0**	0
II контрольная	5	100	5	100	5	100	5	100	5**	100	5**	100

Примечание: \* – различия между группами были статистически значимы ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – различия между группами были статистически высоко значимы ( $p \leq 0,01$ ).

цилом, ранее не использовавшейся с целью профилактики и лечения ПВР. Уникальность ХП как носителя заключается в том, что она не только обеспечивает адресную доставку и постепенное высвобождение 5-фторурацила, но и оказывает антипролиферативное действие сама по себе, усиливая общее воздействие на процесс пролиферации.

Попытки создания и исследования в эксперименте на животных различных носителей-имплантатов для профилактики и лечения ПВР предпринимаются уже давно. Еще в 1996 году B.S. Berger et al. [15] сравнили эффективность двух интраокулярных медленно высвобождающихся лекарственных форм: гранулы и суспензии. Имеется экспериментальная работа Шариповой Д.Н. с соавт. [9] по изучению возможности применения гидрогелевого имплантата (полиуретана, насыщенного 5-ФУ) в ходе проведения витрэктомии при ПВР. В 2014 году Huiyuan Hou, Alejandra Nieto et al. [16] разработали настраиваемую, длительно высвобождающую даунорубин лекарственную систему из oxidized porous silicon (окисленный пористый силикон).

В проведенном исследовании оба варианта интравитреального имплантата, а именно ХП с 5-фторурацилом и без, при УЗИ проявили антипролиферативное действие, которое было более выражено в группе с использованием 5-фторурацила. На 10-е сутки наблюдения в I и II основных группах гемофтальм отмечался в 80% случаев, а в контрольных – в 100%. Такие проявления воспалительно-пролиферативного процесса в глазу, как витреоретинальный тяж или тракция, утолщение задних оболочек и экссудат в заднем отделе, в основных группах не наблюдались вовсе, в контрольных в 80% случаев имел место витреоретинальный тяж. На 31-е сутки все воспалительно-пролиферативные признаки развились в глазах контрольных групп, в I основной не наблюдались, во II основной витреоретинальная тракция отмечалась в 60% случаев. Интересно отметить, что в I основной группе гемофтальм уменьшился с 80%

на 10-е сутки до 20% на 31-е, во II основной – с 80% до 60% соответственно, а в контрольных группах не уменьшился вовсе. Это свидетельствует о рассасывающей способности интравитреального имплантата на основе хитозана, в особенности в сочетании с 5-фторурацилом.

В общем, хочется отметить статистически значимую антипролиферативную и рассасывающую эффективность ХП с 5-фторурацилом, а также антипролиферативные свойства самого носителя-имплантата хитозана.

### Заключение

УЗИ показало выраженные пролиферативные изменения в контрольных группах, менее выраженные во II основной и практически отсутствующие в I основной группе. Из этого можно заключить, что ХП с 5-фторурацилом оказывает наибольший антипролиферативный эффект. ХП без 5-фторурацила также блокирует процесс пролиферации, но в меньшей степени. После проведения морфологических исследований данный имплантат мог бы быть использован в клинике при хирургическом лечении ПВР с целью профилактики рецидивов ПВР в послеоперационном периоде.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Сосновский СВ, Бойко ЭВ, Харитонов НН. Обоснование и разработка системы количественной оценки тяжести пролиферативной витреоретинопатии. *Офтальмохирургия*. 2009;(4):25-30.
2. Кочмала ОБ, Запускалов ИВ, Кривошеина ОИ, Дашко ИА. Хирургия отслойки сетчатки: современное состояние проблемы. *Вестн Офтальмологии*. 2010;(6):46-49.
3. Goezinne F, La Heij EC, Berendschot TT, Kessels AG, Liem AT, Diederens RM, et al. Incidence of redetachment 6 months after scleral buckling surgery. *Acta Ophthalmol*. 2010 Mar;88(2):199-206. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01425.x.
4. Heimann H, Zou X, Jandek C, Kellner U, Bchrakis NE, Kreusel KM, et al. Primary vitrectomy for rhegmatogenous retinal detachment: an analysis of 512 cases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006 Jan;244(1):69-78.
5. Salicone A, Smiddy WE, Venkatraman A, Feuer

- W. Management of retinal detachment when no break is found. *Ophthalmology*. 2006 Mar;113(3):398-403.
6. Foster RE, Meyers SM. Recurrent retinal detachment more than 1 year after reattachment. *Ophthalmology*. 2002 Oct;109(10):1821-27.
7. Miki D, Hida T, Hotta K, Shinoda K, Hirakata A. Comparison of scleral buckling and vitrectomy for retinal detachment resulting from flap tears in superior quadrants. *Jpn J Ophthalmol*. 2001 Mar-Apr;45(2):187-91.
8. Sharma YR, Karunanithi S, Azad RV, Vohra R, Pal N, Singh DV, et al. Functional and anatomic outcome of scleral buckling versus primary vitrectomy in pseudophakic retinal detachment. *Acta Ophthalmol Scand*. 2005 Jun;83(3):293-97.
9. Захаров ВД, Шарипова ДН, Шацких АВ, Новиков СВ, Леонтьева ГД. Способ комбинированного лечения экспериментальной ПВР с применением 5-фторурацила на гидрогелевом носителе. *Офтальмохирургия*. 2006;(3):25-29.
10. Лазаренко ВИ, Большаков ИН, Ильенков СС, Шатилова РИ, Кузовников ВВ, Чанчиков ДГ, др. Опыт применения изделий медицинского назначения Бол-хит и Коллахит-бол в офтальмологии. *Рос Офтальмол Журн*. 2009;2(4):21-24.
11. Yang H, Wang R, Gu Q, Zhang X. Feasibility study of chitosan as intravitreal tamponade material. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008; 246(8):1095-97. doi: 10.1007/s00417-008-0813-8.
12. Ботабекова ТК, Байырханова АО, Енин ЕА, Семенова ЮМ, Кампик А. Изучение состояния внутриглазных структур после интравитреального введения хитозановой плёнки, насыщенной 5-фторурацилом в эксперименте. *Наука и Здравоохранение*. 2015;(6):133-46.
13. Baiyrkhanova A, Ismailova A, Botabekova T, Enin E, Semenova Y. Crosslinked Chitosan/PVA film, saturated with 5-Fluorouracil for the prevention of proliferative vitreoretinopathy. *Int J Drug Deliv Tech*. 2016 Apr-Jun;6(2):47-51.
14. Nassar K, Lüke J, Lüke M, Kamal M, Soliman MM, Grisanti S, et al. Effect of different fixative solutions on eyes with experimental proliferative vitreoretinopathy. *Int J Exp Pathol*. 2015 Apr;96(2):103-10. doi: 10.1111/iep.12119.
15. Berger AS, Cheng CK, Pearson PA, Ashton P, Crooks PA, Cynkowski T, et al. Intravitreal sustained release corticosteroid-5-fluorouracil conjugate in the treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996 Oct;37(11):2318-25.
16. Hou H, Nieto A, Ma F, Freeman WR, Sailor MJ, Cheng L. Tunable sustained intravitreal drug delivery system for daunorubicin using oxidized porous silicon. *J Control Release*. 2014 Mar 28;178:46-54. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.01.003.

#### Адрес для корреспонденции

071400, Республика Казахстан,  
г. Семей, ул. Абая, д. 103, каб. 141,  
Государственный медицинский университет,  
тел. моб.: 8 701 720 30 42,  
e-mail: alma23021984@gmail.com,  
Байырханова Алмагуль Ораловна

#### Сведения об авторах

Байырханова А.О., докторант Государственного медицинского университета г. Семей.  
Ботабекова Т.К., член-корреспондент НАН Республики Казахстан, д.м.н., профессор, председатель правления АО «Казахский ордена «Знак почёта»

научно-исследовательский институт глазных болезней».  
Семёнова Ю.М., к.м.н., завуч кафедры офтальмологии, доцент кафедры общей хирургии, Государственного медицинского университета г. Семей.

Поступила 11.04.2016 г.